

Karyotype Analysis of *Rheum officinale* Chromosome

Min Huang, Dandan Zeng, Wenli Li, Jie Song, Xumei Wang*

School of Pharmacy, Xi'an Jiaotong University, Xi'an Shaanxi
Email: amy260103331@stu.xjtu.edu.cn, wangxumei@mail.xjtu.edu.cn

Received: Nov. 22nd, 2017; accepted: Dec. 4th, 2017; published: Dec. 13th, 2017

Abstract

The karyotype of *Rheum officinale* was analyzed in the present study. The chromosome features were conducted by conventional root-tip squashing method and photomicrography technique. Results were as follows: The karyotype formula of *R. officinale* from Luanchuan in Henan was $2n = 2x = 22 = 18m + 4M$; karyotype was 1A type; karyotype asymmetry index (As.K.%) was 54.81%. Chromosome ploidy was diploid, and no polyploidy was observed. The chromosome number and the morphology of *R. officinale* are stable and clear, which can provide the foundation for further research.

Keywords

Rheum officinale, Ploidy, Chromosome, Karyotype Analysis

药用大黄染色体的核型分析

黄敏, 曾丹丹, 李文丽, 宋杰, 王戌梅*

西安交通大学, 药学院, 陕西 西安
Email: amy260103331@stu.xjtu.edu.cn, wangxumei@mail.xjtu.edu.cn

收稿日期: 2017年11月22日; 录用日期: 2017年12月4日; 发布日期: 2017年12月13日

摘要

对药用大黄(*Rheum officinale* Baill.)的染色体核型进行研究。采用常规根尖压片法分析染色体特征, 并利用显微摄影技术对染色体进行分析。结果表明, 药用大黄的核型公式为 $2n = 2x = 22 = 4M + 18m$, 核型类型为“1A”, 核型不对称系数(As.K.%)为54.81%。染色体倍性为二倍体, 不存在多倍化现象。药

*通讯作者。

用大黄染色体的数量稳定, 形态清晰, 可为进一步深入研究奠定基础。

关键词

药用大黄, 倍性, 染色体, 核型分析

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

药用大黄(*Rheum officinale* Baill.)为蓼科(Polygonaceae)大黄属(*Rheum*)掌叶组(Sect. *Palmata*)植物, 是我国传统中药大黄的原植物之一, 其干燥的根及根茎入药, 具有泻热通肠、凉血解毒、逐瘀通经的功效[1]。除药用大黄以外, 大黄的原植物还包括同组的掌叶大黄(*R. palmatum* L.)和唐古特大黄[*R. tanguticum* (Maxim. ex Regel) Maxim. ex Balf.]。大黄的三种原植物均是中国特有种。药用大黄主要分布在陕西、湖北、四川、贵州和云南等地, 生于海拔 1100~3900 m 的林缘、山坡下、草丛及灌木丛下[2]。

前人对于大黄的研究主要集中于化学成分、药理药效及临床应用等方面[3]-[8]。有关大黄原植物的染色体核型, 目前主要集中在对掌叶大黄或唐古特大黄的研究上[9] [10] [11]。而药用大黄染色体的核型研究, 目前仅见 Jaretsky [12]报道其染色体为四倍体, 但这一结果在随后的近百年尚未再进行过验证。染色体是细胞核中遗传物质的载体, 在不同的生物中具有不同的形态结构和固定数目, 细胞学数据对于植物的系统发育、进化及分化的研究是必不可少的[13] [14] [15]。本课题组前期对大黄三种原植物的分布格局、形态学和利用 ISSR 分子标记进行了系统的研究, 结果表明这三个物种之间遗传分化较小; 用于区别种的形态特征上呈连续变化, 地理分布重叠[16] [17] [18] [19], 是一个物种复合体, 即掌叶大黄复合体。但如前人所报道的, 药用大黄的染色体是四倍体, 而掌叶大黄和唐古特大黄的是二倍体的话, 表明至少药用大黄在染色体特征上和另外两个种有所分化。因此, 本研究拟对药用大黄的核型进行研究, 一方面希望核实该种是否存在二倍体的情况, 另一方面为进一步探讨掌叶大黄复合体的物种分化机制、大黄资源的合理开发利用提供细胞学资料。

2. 材料与方法

2.1. 实验材料

药用大黄干燥成熟的种子于 2015 年 9 月采集自河南省栾川县老君山, 凭证标本保存于陕西师范大学植物标本室(SANU)。

2.2. 实验方法

实验采用常规压片法[20], 挑选高度饱满的种子除去表面附属物之后用清水冲洗两遍, 再转入室温下自来水中浸泡 24 h, 换水后 4℃浸泡 24 h, 使种子充分浸水, 最后将种子均匀分散在用培养皿托起的纱布上, 置于 25℃保温箱, 待种子幼根长至 1 cm 以上时, 于上午 11:00~11:20 时切取 0.5~1 cm 的根尖作为实验材料。由于种子萌发期间可能会分泌萜醌衍生物招致霉菌, 因此每天换水 1~2 次。

将不超过 5 个根尖置于 2 mL 离心管中, 加 2 mL 0.2%秋水仙素水溶液在 4℃低温下处理 8 h, 而后将

材料转入盛有蒸馏水的离心管中于 0℃ 保存 24 h。卡诺氏(Carnoy's)固定液 (无水乙醇:冰醋酸 = 3:1)进行固定,将材料置于 4℃ 冰箱中固定至少 30 min。固定好的材料转入 70%乙醇后置于冰箱中存放待用。

将固定后的材料转入 50%乙醇水溶液,浸泡 5 min,于蒸馏水中洗去乙醇,再转入预热至 60℃ 的 1 mol/L 盐酸中解离 12 min。

将解离并清洗好的根尖置于干净的载玻片上,切下根尖端半透明果胶状分生组织 1~2 mm,滴一小滴卡宝品红染液于分生组织上,用镊子充分捣碎,染色 10 min,染色完毕后滴加一小滴 45%醋酸以稀释染液,压片镜检。

染色体核型分析按照李懋学和陈瑞阳[21]植物染色体核型分析标准;核型分类按照 Stebbins [13]的方法进行;采用 Arano [22]的核型不对称系数(As.K.%)来确定核型的不对称程度;着丝粒指数按照 Levan 等 [23]的方法;染色体类型按照 Levan 等[23]和 Kuo 等[24]的方法。核型参数计算公式为:染色体相对长度(%) = 染色体长度/染色体组总长度 × 100 [23];染色体臂比 = 染色体长臂长度/染色体短臂长度[21];着丝点指数 = 染色体短臂长度/染色体全长 × 100 [23];核型不对称系数(As.K.%) = 全部染色体长臂之和/全部染色体总长度 × 100 [22]。至少统计 5 个染色体分散良好的细胞进行测量,每条染色体测量 5 次后的平均值作为染色体参数数据和绘制核型模式图;染色体数量统计选择 50 个染色体数目清晰的分裂中期细胞进行。

3. 结果

3.1. 染色体数目

对 50 个染色体分散良好的细胞进行染色体数目统计,其中 49 个细胞染色体数目为 22 条,占计数细胞总数的 98%,因此确定药用大黄体细胞染色体数目为 $2n = 22$ (图 1),观察中未发现随体和多倍体现象。

3.2. 染色体相对长度组成及核型分析

药用大黄染色体相对长度变化范围为 7.60~10.50,染色体臂比变化范围为 1.00~1.54,平均臂比为 1.20,不存在臂比大于 2 的染色体,核型分类为“1A”;染色体长度比(最长染色体长度/最短染色体长度)为 1.83,核型不对称系数(As.K.%)为 54.81%,平均着丝点指数为 45.69 (表 1)。药用大黄的 11 对染色体中有 2 对为正中部着丝点染色体,9 对为中部着丝点染色体,因此,药用大黄的核型公式为 $2n = 2x = 22 = 4M + 18m$ (表 1)。药用大黄核型及核型模式图见图 2 和图 3。

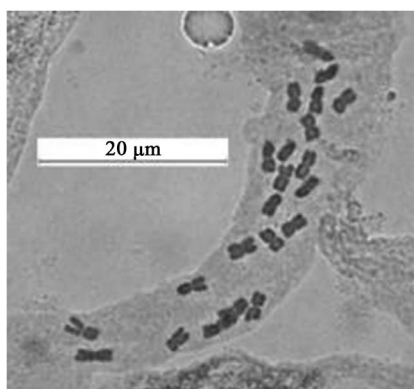


Figure 1. Chromosome number $2n = 22$ metaphase of *Rheum officinale* somatic cell ($\times 1000$)

图 1. 药用大黄的体细胞分裂中期,示染色体 $2n = 22$ ($\times 1000$)

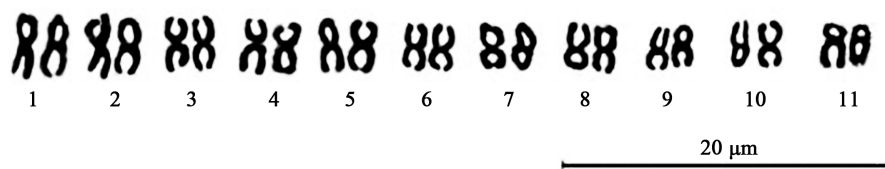


Figure 2. Karyogram of *Rheum officinale* chromosome

图 2. 药用大黄染色体核型图

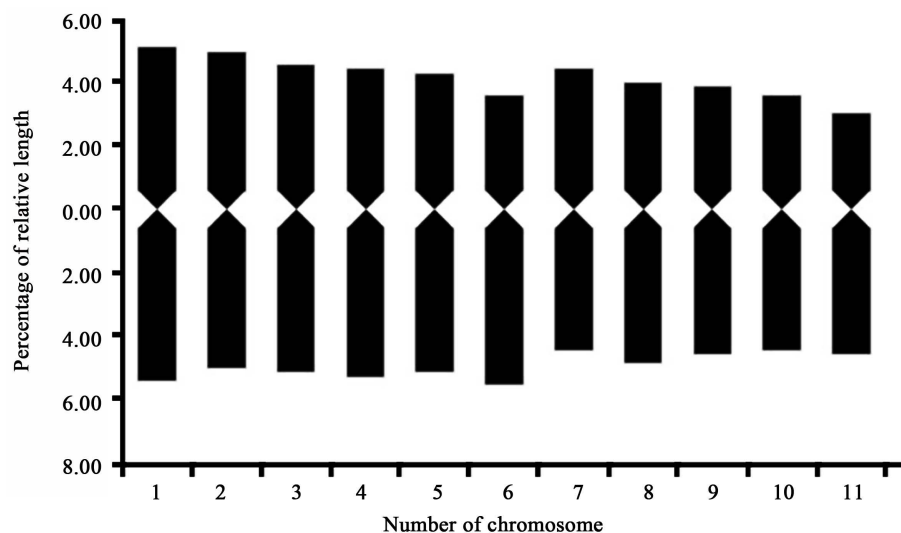


Figure 3. Idiogram of *Rheum officinale* chromosome

图 3. 药用大黄染色体核型模式图

Table 1. Karyotype parameters of *Rheum officinale*

表 1. 药用大黄染色体核型参数

染色体序号	相对长度(%)	臂比	染色体相对长度系数(I.R.L)	着丝点指数	染色体类型	
					Levan	Kuo
1	10.50 = 5.39 + 5.11	1.05	1.15	48.68	m	M2
2	9.94 = 4.97 + 4.97	1.00	1.09	50.00	M	M2
3	9.67 = 5.11 + 4.56	1.12	1.06	47.14	m	M2
4	9.67 = 5.25 + 4.42	1.19	1.06	45.71	m	M2
5	9.39 = 5.11 + 4.28	1.19	1.03	45.59	m	M2
6	9.12 = 5.52 + 3.59	1.54	1.00	39.39	m	M1
7	8.84 = 4.42 + 4.42	1.00	0.97	50.00	M	M1
8	8.84 = 4.83 + 4.01	1.21	0.97	45.31	m	M1
9	8.43 = 4.56 + 3.87	1.18	0.92	45.90	m	M1
10	8.01 = 4.42 + 3.59	1.23	0.88	44.83	m	M1
11	7.60 = 4.56 + 3.04	1.50	0.83	40.00	m	M1
总和	/	/	/	/	/	/
均值	/	1.20	/	45.69	/	/

按照 Kuo 等[24]的分类标准, 11 对染色体分成 2 组, 1~5 对为 M1 型, 6~11 对为 M2 型, 因此, 染色体相对长度组成为 $2n = 22 = 10M1 + 12M2$ 。

4. 讨论

药用大黄体细胞染色体数目稳定, 为 $2n = 2X = 22$ 。与以往前人对同组基于形态性状划分的掌叶大黄和唐古特大黄的染色体数目的研究一致[9] [10] [11], 均为二倍体。目前, 有关药用大黄染色体的数目仅见 Jaretsky 的研究, 为四倍体[12], 在其后的近百年未见有报道。本研究分析的采自河南省栾川县老君山的药用大黄尚未发现四倍体。前人报道唐古特大黄在不同的居群中其核型不同, 有 $2n = 2x = 22 = 2sm + 20m$, $2n = 2x = 22 = 2M + 20m$ 及 $2n = 2x = 22 = 2sm + 2M + 18m$ 三种类型[10], 而掌叶大黄的核型为 $2n = 2x = 22 = 2sm + 20m$ [11]。本研究的药用大黄核型为 $2n = 2x = 22 = 4M + 18m$, 表明掌叶大黄复合体内在染色体核型上存在一定分化。

植物的演化、育种及分类等所有这些工作都是和染色体的数目、形态及核型研究分不开的, 因此有关植物染色体的研究在这些研究工作中是必不可少的。随着分子生物学技术的迅猛发展, 植物染色体核型分析也逐渐渗透到生药学研究领域。对中药原植物物种的核型分析将有助于澄清物种的亲缘关系、促进新药源的开发及良种驯化等。本研究为从染色体层面深入研究大黄原植物的分化与染色体变化间的相关性提供了研究基础。

基金项目

国家自然科学基金(31470401)。

参考文献 (References)

- [1] 国家药典委员会. 中国药典: 2015 年版: 一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 23-24.
- [2] Bao, B.J. and Grabovskaya-Borodina, A.E. (2003) Rheum. In: Li, A.R. and Bao, B.J., Eds., *Flora of China, Volume 5*, Science Press, Beijing; Missouri Botanical Garden, St. Louis, 341-350.
- [3] 郑俊华, 西泽信, 山岸乔, 西冈五夫, 金子光, 三桥博, 楼之岑. 正品大黄中 34 种化学成分的高效液相色谱法定量分析[J]. 北京大学学报, 1989(1): 315-317.
- [4] Shang, X. and Yuan, Z. (2003) Determination of Active Components in Rhubarb and Study of Their Hydrophobicity by Micellar Electrokinetic Chromatography. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **13**, 617-622. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(02\)01043-0](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(02)01043-0)
- [5] 王家葵, 李傲, 王慧, 徐晓玉. 正品大黄不同品种间泻下效价强度比较研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(23): 1987-1991.
- [6] Liu, L., Guo, Z.J., Lv, Z.G., et al. (2008) The Beneficial Effect of *Rheum tanguticum* Polysaccharide on Protecting against Diarrhea, Colonic Inflammation and Ulceration in Rats with TNBS-Induced Colitis: The Role of Macrophage Mannose Receptor in Inflammation and Immune Response. *International Immunopharmacology*, **8**, 1481-1492. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2008.04.013>
- [7] 高亮亮, 许旭东, 南海江, 杨俊山, 陈士林. 唐古特大黄化学成分研究[J]. 中草药, 2011, 42(3): 443-446.
- [8] Sun, M., Li, L., Mei, W., et al. (2016) Effects of Growth Altitude on Chemical Constituents and Delayed Luminescence Properties in Medicinal Rhubarb. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, **162**, 24-33. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.06.018>
- [9] Liu, R.R., Wang, A.L., Tian, X.M., et al. (2010) Uniformity of Karyotypes in *Rheum* (Polygonaceae), a Species-Rich Genus in the Qinghai-Tibetan Plateau and Adjacent Regions. *Caryologia*, **63**, 82-90. <https://doi.org/10.1080/00087114.2010.10589711>
- [10] 胡延萍, 谢小龙, 温泉, 赵旭东, 王莉, 李毅. 唐古特大黄五个居群的核型[J]. 云南植物研究, 2007, 29(4): 429-433.
- [11] Ye, J.Q., Jia, Y.Y., Fan, K., et al. (2014) Karyotype Analysis of *Rheum palmatum*. *Genetics and Molecular Research*, **13**, 9056-9061. <https://doi.org/10.4238/2014.October.31.20>

- [12] Jaretzky, R. (1928) Histologische und karyologische studien an Polygonaceen. *Jahrbucher fur Wissenschaftliche Botanik*, **69**, 357-490.
- [13] Stebbins, G.L. (1971) Chromosomal Evolution in Higher Plants. Edward Aronld Ltd., London, 87-93.
- [14] 洪德元. 植物细胞分类学[M]. 北京: 科学出版社, 1990: 1-11.
- [15] Stace, C.A. (2000) Cytology and Cytogenetics as a Fundamental Taxonomic Resource for the 20th and 21st Centuries. *Taxon*, **49**, 451-477. <https://doi.org/10.2307/1224344>
- [16] Wang, X.M., Hou, X.Q., Zhang, Y.Q., et al. (2010) Distribution Pattern of Genuine Species of Rhubarb as Traditional Chinese Medicine. *Journal of Medicinal Plants Research*, **4**, 1865-1876.
- [17] Wang, X.M., Hou, X.Q., Zhang, Y.Q., et al. (2012) Genetic Diversity of the Endemic and Medicinally Important Plant *Rheum officinale* as Revealed by Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) Markers. *International Journal of Molecular Sciences*, **13**, 3900-3915. <https://doi.org/10.3390/ijms13033900>
- [18] Wang, X.M., Yang, R., Feng, S.F., et al. (2012) Genetic Variation in *Rheum palmatum* and *Rheum tanguticum* (Polygonaceae), Two Medicinally and Endemic Species in China Using ISSR Markers. *PLoS ONE*, **7**, e51667. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051667>
- [19] Wang, X.M., Hou, X.Q., Zhang, Y.Q., et al. (2014) Morphological Variation in Leaf Dissection of *Rheum palmatum* Complex (Polygonaceae). *PLoS ONE*, **9**, e110760. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110760>
- [20] 李懋学, 张赞平. 作物染色体及其研究技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996: 23-37.
- [21] 李懋学, 陈瑞阳. 关于植物核型分析的标准化问题[J]. 武汉植物学研究, 1985, 3(4): 297-302.
- [22] Arano, H. (1963) Cytological Studies in Subfamily Carduoideae (Compositae) of Japan, IX. The Karyotype Analysis and Phylogenetic Consideration on *Pertya* and *Ainsliaea*. *Botanical Magazine (Tokyo)*, **76**, 32-39. <https://doi.org/10.15281/jplantres1887.76.32>
- [23] Levan, A., Fredga, K. and Sandberg, A. (1964) Nomenclature for Centromeric Position on Chromosomes. *Hereditas*, **52**, 201-220. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1964.tb01953.x>
- [24] Kuo, S.R., Wang, T.T. and Huang, T.C. (1972) Karyotype Analysis of Some Formosan Gymnosperms. *Taiwania*, **17**, 66-80.

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2168-5665, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: br@hanspub.org